

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :

2 285 857

(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 75 29449

(54) Agent de contrôle médical destiné à être administré par voie intravasculaire.

(51) Classification internationale (Int. Cl.²). A 61 K 29/00.

(22) Date de dépôt 25 septembre 1975, à 16 h 22 mn.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : *Demande de brevet déposée en Suède le 27 septembre 1974,
n. 74 12164-1 au nom de Pharmacia AB.*

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — «Listes» n. 17 du 23-4-1976.

(71) Déposant : Société dite : PHARMACIA FINE CHEMICALS AB, résidant en Suède.

(72) Invention de : Ulf Sven Erik Rothman, Sven Lennart Kagedal et John Lennart Söderberg.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet Madeuf. Conseils en brevets.

La présente invention concerne un agent destiné à être administré par voie intravasculaire en vue de procéder à des diagnostics et/ou des examens physiologiques et qui se compose d'une suspension de minuscules particules radioactives dans un milieu liquide toléré physiologiquement ou contient une telle suspension.

Des microsphères marquées du point de vue radioactif et se trouvant en suspension dans un liquide toléré physiologiquement sont de plus en plus utilisées ces derniers temps dans le cadre de recherches et d'examens relatifs à la circulation sanguine, aux phénomènes dits de dérivation, à la micro-circulation et aux processus nutritionnels ainsi que comme moyen de soumettre l'homme et les animaux à des examens médicaux par scintillographie.

Pour effectuer les examens mentionnés on a utilisé des matières de deux types différents, à savoir d'une part des particules non biodégradables et d'autre part des particules biodégradables, c'est-à-dire des particules susceptibles d'être dégradées in vivo par des enzymes présentes dans les organismes. Habituellement, les particules biodégradables ont été utilisées pour des expériences effectuées sur l'homme et les particules non dégradables biologiquement pour des expériences sur des animaux. Un inconvénient commun à ces particules réside dans le phénomène de séparation du noyau radioactif. Afin de remédier à ce problème on a tenté de faire en sorte que les particules non dégradables soient déjà marquées dès leur fabrication de manière à obtenir un enrobage du noyau radioactif. Ces particules, qui peuvent se composer entre autres de différentes matières plastiques, comme par exemple des résines échangeuses d'ions carbonisées, présentent cependant plusieurs inconvénients sérieux. Elles ont une haute densité qui risque de provoquer des phénomènes de sédimentation dans les vaisseaux sanguins. La forte densité peut en outre être à l'origine d'autres perturbations rhéologiques par suite desquelles la répartition des particules dans les capillaires sanguins risque d'être différente de celle obtenue dans un courant sanguin normal. De plus, des particules de matière plastique se trouvant dans du sérum subissent fréquemment une aggrégation qui peut provoquer d'autres perturbations.

Etant donné que le marquage avec des noyaux radioactifs se réalise au stade de la fabrication de la matière formant support,

le produit doit être utilisé immédiatement car les noyaux radioactifs employés dans ce domaine d'application ont presque exclusivement une courte demi-durée de vie (5 à 60 jours). La fabrication de microsphères marquées avec un noyau radioactif
5 est très coûteuse et, si la matière obtenue ne peut pas être utilisée en un laps de temps limité après sa fabrication de sorte que le noyau radioactif se trouve altéré, il en résulte des pertes importantes du point de vue économique. Il s'agit là d'un facteur qui tend en même temps à limiter l'utilisation
10 de noyaux radioactifs appropriés.

Les particules dégradables sont généralement marquées juste avant leur utilisation. Ainsi, il a été possible d'admettre des marquages radioactifs présentant une faible stabilité, d'une part, du fait que les microsphères ont une durée de vie
15 limitée in vivo (en raison de la dégradation enzymatique) et, d'autre part, puisqu'on utilise généralement des noyaux radioactifs d'une très courte demi-durée de vie, ce qui signifie que le choix d'un noyau radioactif approprié est très limité. Afin de permettre l'utilisation de noyaux radioactifs plus
20 stables, sans courir le risque de voir ceux-ci se déposer dans différents organes, les noyaux radioactifs doivent être liés, d'une matière stable et sans risque de séparation, aux particules et également aux fragments de particules issus de la dégradation enzymatique.

25 En outre, les particules dégradables proposées, à savoir celles à base de protéines dénaturées comme par exemple l'albumine, présentent dans bien des cas une trop forte densité et/ou adhérence et peuvent provoquer une sédimentation et/ou agrégation des particules dans la suspension. Cependant, les
30 particules décrites dans la demande de brevet suédois n° 7 407 461-8 ne présentent pas ces inconvénients.

Suivant la présente invention il s'est avéré de manière surprenante que différents noyaux radioactifs peuvent être liés d'une manière très stable aux particules utilisées
35 sans que celles-ci présentent les inconvénients mécaniques cités.

L'agent proposé dans le cadre de la présente invention et destiné à être administré par voie intravasculaire en vue de procéder à des diagnostics et/ou à des recherches ou examens

physiologiques est constitué par ou contient une suspension, dans un liquide toléré physiologiquement, de minuscules particules marquées avec au moins un noyau métallique radioactif et présentant de préférence une dimension comprise entre

5 0,1 et 300 microns, les particules étant insolubles mais gonflables dans l'eau et comprenant des molécules de polymères contenant des groupes hydroxyle, de préférence des hydrates de carbone polymères ou polymérisés ou des sucres-alcools ou encore des dérivés, tolérés physiologiquement, de ceux-ci. Un tel

10 agent est caractérisé essentiellement en ce que les particules comportent des groupes chélateurs à liaisons de covalence auxquels le noyau radioactif est lié sous forme de complexes du type chélate qui sont principalement composés d'au moins quatre, de préférence d'au moins cinq à huit noyaux cycliques

15 à 5 ou 6 groupes, renfermant le métal et deux atomes coordonneurs de métal espacés d'une distance de deux ou trois atomes, l'un des atomes coordonneurs de métal étant un atome d'azote et l'autre un atome d'azote ou un atome de soufre ou un atome d'oxygène, lequel atome d'oxygène fait partie d'un groupe

20 carboxylate, sulfonate ou phosphonate ou d'un autre groupe fonctionnel équivalent chargé négativement.

Les particules renferment de préférence au moins deux groupes chélateurs différents auxquels le noyau radioactif est lié sous forme de complexes du type chélate composés d'au

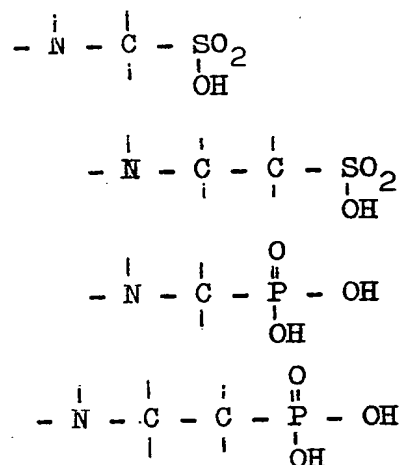
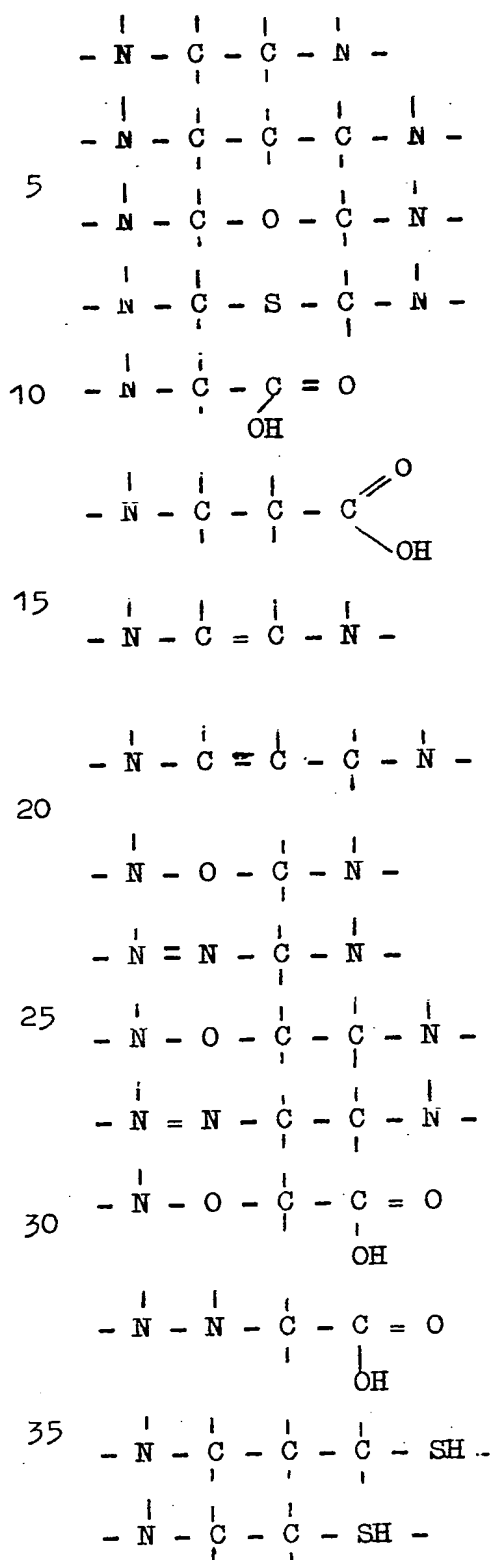
25 moins quatre noyaux cycliques à cinq ou six groupes.

Par "groupes chélateurs" il convient d'entendre des groupes qui, par liaison avec des ions métalliques, donnent des complexes du type appelé "chélate" qui présentent des constantes de stabilité élevées.

30 Les groupes chélateurs contiennent de préférence au moins trois atomes d'azote.

Les groupes chélateurs peuvent renfermer au moins trois séquences qui peuvent être identiques ou différentes. En outre, certains atomes peuvent être communs à différentes

35 séquences. Celles-ci peuvent avoir par exemple les formules suivantes :



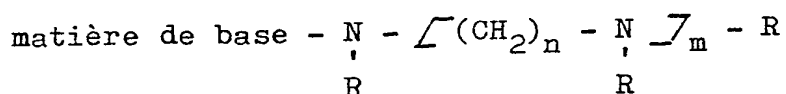
Il peut également s'agir de séquences qui renferment un atome d'azote et, à une distance de deux ou trois atomes de cet atome d'azote, un autre atome d'azote ou un atome de soufre ou encore un atome d'oxygène, l'atome d'oxygène faisant partie d'un groupe carboxylate, sulfonate ou phosphonate ou bien d'un autre groupe fonctionnel équivalent chargé négativement.

Les groupes chélateurs peuvent être liés par covalence à des groupes hydroxyle des molécules de polymères par des méthodes habituellement utilisées pour l'introduction de substituants. Plusieurs procédés traditionnellement utilisés pour lier des protéines et d'autres substances à des matières de base solubles et insolubles peuvent être utilisés pour lier les groupes chélateurs à la matière de base. Les groupes carboxyle présents dans le chélateur peuvent par exemple conférer des liaisons du type ester à la matière de base par réaction en présence de carbodiimides ou d'autres réactifs capables de produire une condensation. D'autre part, des groupes carboxyle peuvent être fixés sur la matière de base et peuvent servir à former des liaisons du type amide avec le chélateur. Des groupes réactifs peuvent être greffés sur le polymère de différentes manières bien connues et alors réaliser une liaison du chélateur par réaction avec des groupes thiol ou amino ou avec d'autres centres nucléophiles du chélateur. Des exemples de tels groupes sont des groupes aldéhyde et céto (oxydation partielle de la matière de base), des groupes halogéno-acétyle, des groupes azide, des groupes isocyanate et isothiocyanate, des groupes s-triazinyle, des groupes divinylsulfone, des groupes esters d'acides carboxyliques, des groupes esters d'acides imido carboxyliques (activation par du bromure de cyanogène), des groupes oxirane et des groupes qui sont facilement convertis en dérivés d'oxirane et en disulfures réactifs. Suivant le procédé de liaison choisi, le chélateur entier peut être lié directement à la matière de base ou être formé par étapes successives en liant d'abord une matière de départ pour le chélateur à la matière de base et en la modifiant ensuite chimiquement.

Des composés répondant à la formule générale

$$H_2N \text{---} [(CH_2)_n \text{---} NH]_m \text{---} H$$
 dans laquelle n représente 2 ou 3 et m un nombre compris entre 1 et 100 peuvent par exemple être

liés à la matière de base et ensuite être carboxyméthylés ou carboxyéthylés plus ou moins complètement de manière à obtenir un chélateur du type suivant :



- 5 où R représente un atome d'hydrogène et/ou un groupe CH_2COOH et/ou $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$.

- Le composé azoté lié à la matière de base contient dans chaque cas un certain nombre ($m + 1$) d'atomes d'azote, m étant de préférence un nombre de 1 à 5, et la liaison avec
 10 la matière de base peut s'effectuer au niveau de l'un quelconque des atomes d'azote. Le nombre de groupes carboxyméthyle et/ou carboxyéthyle peut varier d'un cas à un autre entre 0 et $m + 2$. Cela conduit à la formation d'un très grand nombre de groupes chélateurs différents sur les particules. Ainsi, des métaux
 15 capables de former des chélates très stables par coordination simultanée tant avec les groupes carboxyle qu'avec les groupes azotés servent de préférence à former de tels chélates, alors que des métaux aptes à former des chélates plus ou moins stables avec des groupes azotés seuls sont de préférence utilisés pour
 20 former des chélates de ce type. Il est également possible d'obtenir des chélates présentant une composition intermédiaire entre celles de ces deux types de chélate ou une composition renfermant les groupes hydroxyle de la matière de base. Grâce à la présence de toute une série de groupes chélateurs différents,
 25 les possibilités d'utilisation d'une seule et même particule peuvent être considérablement élargies et s'étendre à différents métaux.

- Les groupes chélateurs du type mentionné ci-dessus ne sont indiqués qu'à titre d'exemple de groupes susceptibles
 30 d'être utilisés suivant la présente invention. Ainsi les groupes carboxyméthyle et les groupes carboxyéthyle peuvent être remplacés respectivement par des groupes sulfométhyle, sulfoéthyle, phosphométhyle ou des groupes phosphoéthyle, aminoéthyle ou aminopropyle ou par d'autres groupes équivalents. On peut en
 35 outre utiliser des chélateurs constitués par des groupes analogues contenant de l'hydrazine ou de l'hydroxylamine.

Afin de conférer au complexe métallique obtenu à partir de la matière de base une stabilité suffisante in vivo, l'ion

métallique utilisé doit être au moins bivalent et doit appartenir aux groupes des alcalis ou des métaux alcalino-terreux. Le métal utilisé est de préférence un métal de transition, notamment un lanthanide ou un actinide.

- 5 Le marquage avec le noyau métallique radioactif se réalise d'une manière très simple en faisant réagir une solution d'un sel du noyau radioactif avec une suspension des particules à la température ambiante et, généralement, dans des conditions de pH neutre ou presque neutre (environ 5 à 9). Une fois le
- 10 noyau radioactif fixé au chélateur, il convient de chauffer la suspension pendant un certain temps à une température comprise entre 80 et 110°C. Ce chauffage permet de stabiliser le complexe métallique.

- 15 Les particules insolubles mais gonflables dans l'eau utilisées suivant la présente invention peuvent être des particules non dégradables ou biologiquement dégradables et se composent de préférence d'hydrates de carbone polymères ou polymérisés ou de sucres-alcools ou des dérivés, tolérés physiologiquement, de ceux-ci.

- 20 En particulier les particules polymères insolubles mais gonflables dans l'eau se composent d'un réseau tridimensionnel renfermant des groupes hydroxyle et dont les éléments constitutifs sont maintenus ensemble par des liaisons de type covalent.

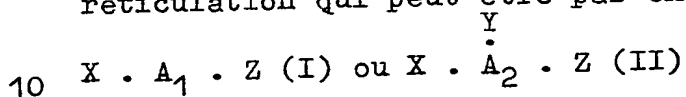
- 25 Ce réseau tridimensionnel est obtenu de préférence par réticulation des polymères renfermant des groupes hydroxyle, notamment des polysaccharides ou des dérivés de ceux-ci, au moyen de ponts comportant des liaisons covalentes.

- 30 La réticulation conduisant au réseau tridimensionnel pratiquement infini peut se réaliser en faisant réagir les polymères renfermant des groupes hydroxyle avec un agent de réticulation au moins bifonctionnel.

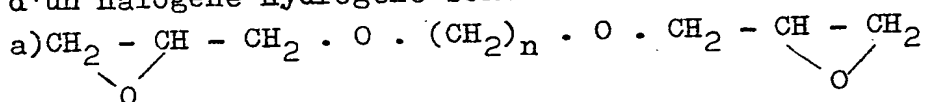
- 35 Les particules de polymère se composent de préférence de polysaccharides, comme par exemple le dextrane, qui ont été réticulés par des ponts avec des liaisons covalentes de manière à obtenir un réseau tridimensionnel insoluble mais gonflable dans l'eau auquel ont été liées des polyamines structurées, comme par exemple des polyéthylène-amines, ces dernières ayant fait l'objet, à des degrés variables, d'une N - substitution
- 40 tion de groupes répondant à la formule :

- $(\text{CH}_2)_n \cdot \text{COOH}$ ou - $(\text{CH}_2)_n \text{SO}_2\text{OH}$, n représentant 1 ou 2.

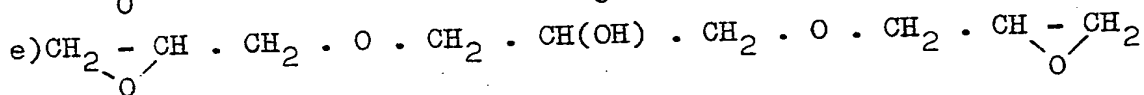
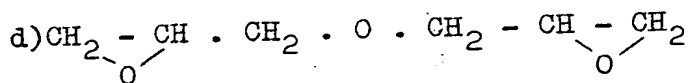
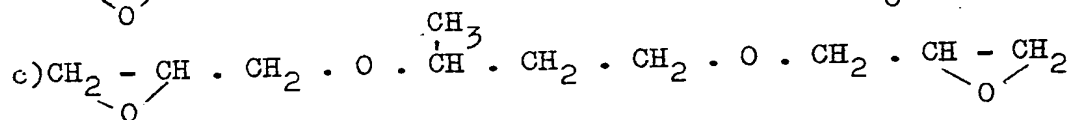
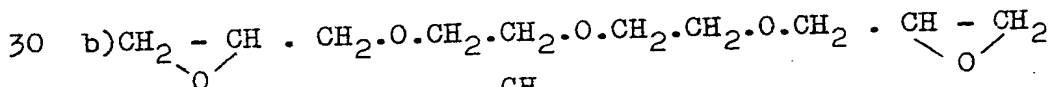
Afin d'obtenir des ponts de réticulation liés aux chaînes de polymères, comme par exemple les chaînes de polysaccharides, par l'intermédiaire de liaisons éther, on peut faire réagir le polymère renfermant des groupes hydroxyle, tels que le polysaccharide ou le dérivé de polysaccharide, par exemple dans une solution aqueuse alcaline avec un agent de réticulation qui peut être par exemple du type



où X, Y et Z représentent chacun un atome d'halogène, de préférence un atome de chlore ou de brome, et A_1 et A_2 représentent chacun une chaîne hydrocarbonée aliphatique saturée, droite ou ramifiée, qui a fait l'objet d'une substitution d'un ou plusieurs groupes hydroxyle et contient de préférence de 3 à 30 atomes de carbone, par exemple de 3 à 20 atomes de carbone et notamment 3 à 10 atomes de carbone, et dans laquelle peut éventuellement se trouver intercalé un ou plusieurs atomes de carbone, ou bien on peut faire réagir le polymère avec un composé époxyde correspondant obtenu à partir du composé (I) ou (II) par scission d'un halogène hydrogéné. Des exemples de substances bifonctionnelles répondant à la formule $\text{X} \cdot \text{A}_1 \cdot \text{Z}$ et de composés époxydes correspondants susceptibles d'être obtenus à partir de composés conformes à la formule par scission d'un halogène hydrogéné sont :



où n est un nombre entier comme par exemple 2 à 4 ;



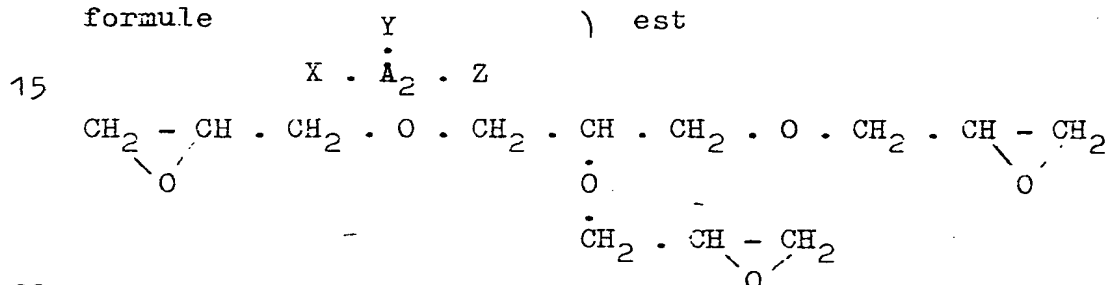
35 ou des hydrines halogénées correspondantes comme par exemple

la dichlorhydrine et la dibromhydrine; et

f) des dérivés bifonctionnels de glycérol répondant à la formule $X \cdot CH_2 \cdot CH(OH) \cdot CH_2 \cdot Z$ ou des composés époxydes correspondants (obtenus par scission d'un halogène hydrogéné)
 5 répondant à la formule $CH_2 - \underset{\text{O}}{\text{CH}} \cdot CH_2 \cdot Z$ comme par exemple

l'épichlorhydrine ou l'épibromhydrine. Un autre exemple d'un tel composé bifonctionnel est le 1,2 - 3,4-diépoxybutane répondant à la forme $CH_2 - \underset{\text{O}}{\text{CH}} \cdot \underset{\text{O}}{\text{CH}} - CH_2$.
 10

Un exemple d'un agent de réticulation trifonctionnel (qui est un composé époxyde correspondant à un composé de la formule



On fait réagir le polysaccharide ou le dérivé de polysaccharide avec la quantité nécessaire d'un agent de réticulation au moins bifonctionnel pour obtenir un gel insoluble dans l'eau, c'est-à-dire un réseau tridimensionnel pratiquement
 25 infini qui présente les propriétés désirées. Ceux spécialisés dans ce domaine peuvent facilement établir par voie empirique une relation appropriée entre les quantités de différents polysaccharides ou dérivés de polysaccharides et d'agent de réticulation.

30 Afin d'obtenir des ponts de réticulation liés aux chaînes de polysaccharide par l'intermédiaire de liaisons ester, on peut faire réagir le polysaccharide ou le dérivé de polysaccharide d'une manière connue en soi avec, par exemple, des acides dicarboxyliques aliphatiques ou hétérocycliques ou
 35 aromatiques ou avec des dérivés réactifs de ceux-ci, comme par exemple des dichlorures d'acides dicarboxyliques (tels que l'acide succinique ou l'acide adipique) ou, par exemple, avec des diisocyanates ou diisothiocyanates. D'autres agents de réticulation peuvent également être utilisés.

La réaction de réticulation conduit non seulement à la formation de ponts mais a souvent également pour effet d'introduire dans le composé des substituants liés de manière monofonctionnelle, c'est-à-dire à une seule liaison (mono-
5 éthers, mono-esters, etc..) provenant de l'agent de réticulation, auquel cas l'un seulement des groupes réactifs présents dans l'agent de réticulation au moins bifonctionnel réagit avec un groupe hydroxyle de la chaîne polysaccharide, alors que l'autre ou les autres groupes réactifs de l'agent de réticulation
10 réagissent par exemple avec de l'eau pour former par exemple des groupes hydroxyle ou des groupes carboxyle, etc.. En conséquence, le polymère obtenu comporte le plus souvent également des substituants liés de manière monofonctionnelle et provenant de l'agent de réticulation, ces substituants pouvant être par
15 exemple - O . CH₂ . CH(OH) . CH₂ OH lorsque l'agent de réticulation est l'épichlorhydrine et -O . CH₂ . CH(OH) . CH₂ . O . (CH₂)₄ . O . CH₂ . CH(OH) . CH₂ OH lorsque l'agent de réticulation est l'éther diglycidique de 1,4 - butandiol ou par exemple -O . CO . (CH₂)_n . COOH lorsque l'agent de réticulation est
20 du dichlorure d'un acide dicarboxylique.

Parmi les particules non dégradables pouvant être utilisées suivant la présente invention, il convient de citer celles à base d'agarose et d'agarose réticulé et de dextrane réticulé et de nombreux autres polysaccharides réticulés et
25 dérivés de ceux-ci. Peuvent également être utilisées avantageusement des particules qui sont par exemple à base de saccharose polymérisé et réticulé ou de sorbitol. Des particules biodégradables utilisées suivant la présente invention peuvent être à base de polysaccharides réticulés comme par exemple de l'amidon
30 et du glycogène et des dextrans, obtenues à partir de ces derniers, dégradables par l' α -amylase. L'amidon peut se composer d'amylase ou d'amylopectine ou de mélanges de celles-ci. Des particules dégradables par l' α -amylase sont décrites dans la demande de brevet suédois n° 7 407 461-8.

35 Qu'il s'agisse de particules dégradables ou non dégradables il peut être introduit dans les molécules de polysaccharide réticulées présentes dans le réseau tridimensionnel des substituants autres que les ponts de réticulation, comme proposé dans ladite demande de brevet suédois.

Le gel polymère peut être obtenu sous forme de blocs ou de particules soit en préparant les polymérisats sous la forme de morceaux relativement importants (polymérisation en masse) et, le cas échéant, en désintégrant ceux-ci par exemple
5 par broyage, soit en préparant le produit directement par polymérisation en dispersion sous la forme de particules sphériques (perles). Dans ce dernier cas le mélange réactionnel est dispersé sous forme de gouttes dans un liquide inerte non miscible avec lui, de sorte que les particules de gel formées lors de la
10 réaction dans les gouttes sont récupérées. On choisit de préférence des particules présentant une forme sphérique. Par fractionnement, par exemple par tamisage, on peut obtenir des particules présentant les dimensions désirées.

Les particules de polymère réticulé sont insolubles
15 dans l'eau (au moins à l'intérieur d'une plage de température comprise entre 0 et 37°C) mais gonflent dans l'eau pour former des particules de gel. Celles-ci peuvent contenir par exemple plus de 50% en poids d'eau, de préférence plus de 65 % en poids d'eau. Le gel peut contenir par exemple moins de 99,8 % en poids
20 d'eau, de préférence moins de 99,5 % en poids d'eau. A l'état gonflé par l'eau les particules présentent avantageusement une densité de 1,03 à 1,20 et de préférence de 1,05 à 1,15 g/cm³. Cela les rend particulièrement aptes à venir en contact avec le sang, puisque la densité des globules rouges est de 1,098
25 g/cm³. Les particules peuvent avoir une forme irrégulière ou sphérique, cette dernière étant préférable.

Les particules présentent de préférence une dimension de 0,1 à 300 microns, par exemple de 1 à 100 microns, à l'état gonflé par de l'eau. Souvent, il convient de choisir des particules de 5 à 60 microns à l'état gonflé par de l'eau, lorsqu'on
30 désire bloquer des vaisseaux relativement fins.

L'agent permettant d'effectuer des diagnostics est destiné à être administré par voie intravasculaire, c'est-à-dire de préférence dans des vaisseaux sanguins mais parfois
35 également dans des vaisseaux lymphatiques.

La dimension des particules peut être choisie de telle sorte que, après administration intravasculaire, elles obstruent des vaisseaux relativement fins se trouvant dans une certaine partie du corps ou conduisant à cette partie.

La grosseur de particule choisie dépend de la dimension des vaisseaux à obstruer. A titre d'exemples de vaisseaux sanguins plus fins entrant en ligne de compte à cet égard il convient de citer des capillaires sanguins d'un diamètre de 5
5 à 15 microns et des méta-artérioles d'un diamètre d'environ 15 à 300 microns. Dans certains cas, par exemple lorsqu'il s'agit de déterminer des volumes de sang avec des particules radioactives, on peut utiliser des particules si petites qu'elles n'obstruent même pas les capillaires sanguins les plus fins.

10 Après administration intravasculaire, les particules de l'agent servant à faire des diagnostics peut donc généralement obstruer les vaisseaux plus fins de sorte que l'écoulement dans ces vaisseaux se trouve ralenti et la durée de séjour de la substance radioactive dans le système de vaisseaux se trouve
15 prolongée ou ses voies d'écoulement se trouvent détournées.

Lorsque l'agent servant à l'établissement de diagnostics est administré, les particules et les noyaux radioactifs se trouvent retardés dans une même partie du système vasculaire, en particulier en amont des vaisseaux les plus fins.

20 L'agent est administré en une quantité suffisante pour obtenir dans chaque cas l'effet désiré. La dose d'agent administré (calculée par sujet) est généralement de 0,1 à 2000 mg particules, par exemple de 0,5 à 200 mg de particules et dépend de l'examen à effectuer, c'est-à-dire par exemple de la zone
25 capillaire à examiner et éventuellement à obstruer. Cette dose peut être, par exemple, de 0,001 mg à 50 mg, de préférence de 0,01 à 25 mg et notamment de 0,05 à 10 mg de particules par kilo de poids de corps humain.

La concentration des particules dans la suspension
30 peut varier dans de larges limites en fonction de l'application envisagée. Sa limite inférieure peut être par exemple de 0,01 mg ou de 0,1 mg ou encore de 1 mg de particules par ml de suspension et sa limite supérieure peut être par exemple de 200 mg ou de 50 mg ou encore de 25 mg de particules par ml de suspension. Le
35 liquide aqueux toléré physiologiquement dans lequel les particules se trouvent en suspension peut être l'un des fluides couramment utilisé pour des injections intravasculaires, comme par exemple une solution saline (solution aqueuse de NaCl à 0,9%) ou des solutions aqueuses de glucose ou de sorbitol (à 5% par

exemple) ou des solutions des sels présents dans le plasma sanguin ou encore des liquides appelés diluants de plasma. D'autres substances tolérées physiologiquement peuvent être ajoutées à la suspension.

5 Il est recommandable d'utiliser des suspensions stérilisées des particules. La stérilisation peut être réalisée par chauffage, par exemple par traitement en autoclave ou par l'addition de substances empêchant la croissance de micro-organismes. Les suspensions peuvent également être préparées de
10 manière aseptique.

L'invention est illustrée ci-après par un certain nombre d'exemples de réalisation concrets.

EXEMPLE 1

A une suspension de 20 g de particules d'un gel de
15 dextrane réticulé par de l'épichlorhydrine et dont les particules présentent à l'état gonflé un diamètre d'environ 40 à 56 microns (Sephadex [®] - G25 Superfine, commercialisé par la Pharmacia Fine Chemicals AB, Suède), dans 200 ml d'eau, on ajoute une solution de 25 g d'hydroxyde de sodium dans 30 ml
20 d'eau, après quoi 75 ml d'épichlorhydrine sont ajoutés goutte à goutte en agitant. Le mélange est chauffé pendant 2 heures à 60°C, en agitant continuellement, dans un récipient muni d'un condenseur à reflux. On obtient initialement une élévation spontanée de la température jusqu'au point de reflux. Les particules
25 ainsi transformées en dérivés du type époxy sont lavées sur un filtre avec de l'eau jusqu'à obtention d'un filtrat neutre. L'eau est éliminée par rinçage avec de l'éthanol, puis on procède à un séchage et ajoute 65 g de triéthylènetétramine et
30 130 ml d'eau. Au moment où l'eau est ajoutée on observe une élévation brusque de la température. Le mélange est agité à la température ambiante pendant 48 heures, après quoi le produit est lavé sur un filtre en verre avec de l'eau, avec de l'acide chlorhydrique à concentration molaire 0,2 M et enfin avec de
35 l'eau jusqu'à obtention d'un pH compris entre 4 et 5. Des échantillons sont prélevés et traités avec 25 millimoles de CuSO_4 de sorte que les particules de gel deviennent bleu foncé, ce qui est un phénomène caractéristique de complexes cuivre-amine. La suspension est diluée avec de l'eau jusqu'à obtention d'un poids total de 90 g, après quoi 16 g de triéthylamine et 10 g
40 d'acide chlorocétique sont ajoutés. Le mélange est agité pendant

18 heures à température ambiante. Le produit est lavé avec de l'eau jusqu'à obtention d'un pH neutre et ensuite avec de l'éthanol. Puis le produit est séché. La teneur en azote du produit est de 2,5 %. Lorsqu'on y ajoute 25 millimoles de CuSO_4 ,
5 le produit prend une coloration bleu-jaune intense.

EXEMPLE 2

A 3 g du dérivé époxy, préparé conformément à l'exemple 1, sont ajoutés 10 ml de pentaéthylènehexamine et 50 ml d'eau. Le mélange est agité pendant 64 heures à température ambiante.
10 Puis les particules de gel sont lavées avec de l'acide chlorhydrique à concentration molaire 0,2 M, de l'hydroxyde de sodium 2 M et de l'eau, après quoi le produit est condensé avec de l'acétone. La teneur en azote est de 4,3 %. La réaction de coloration avec du CuSO_4 donne le même résultat que dans le cas
15 de l'exemple 1.

La carboxyméthylation de 2 g de ce produit est effectuée, comme dans le cas de l'exemple 1, au moyen de 3 g de triéthylamine et de 1,8 g d'acide chloracétique. La réaction de coloration avec du CuSO_4 donne le même résultat que dans le cas
20 de l'exemple 1.

EXEMPLE 3

De la polyéthylène-imine ($M_n = 30.000$ à 40.000) commercialisée par la Fluka AG, (Suisse) est liée chimiquement à un dérivé du type époxy, préparé conformément à l'exemple 1 et
25 carboxyméthylé dans les mêmes conditions que celles indiquées à l'exemple 1 à ceci près que le mélange réactionnel se compose de 2 g de dérivé époxy, de 10 ml de solution aqueuse à 50% de polyéthylène-imine et de 5 ml d'eau. La teneur en azote est de 5,1%. La réaction de coloration avec du CuSO_4 donne le même
30 résultat que dans le cas de l'exemple 1.

EXEMPLE 4

Par des méthodes connues, des groupes 3-chloro-2-hydroxypropyle sont introduits (jusqu'à un degré de substitution d'environ 1 millimole/g) dans un dérivé hydroxypropylé d'un
35 gel de dextrane réticulé (Sephadex ^(R) - LH - 20, commercialisé par la Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala). A une suspension de 14 g de ce dérivé dans 86 ml de triéthylènetétramine on ajoute une solution de 2,9 g d'hydroxyde de potassium dans 120 ml de méthanol. Le mélange est chauffé, en agitant, au bain-marie à

80°C pendant 1 heure et ensuite à 55°C pendant 2 heures. Le produit obtenu est lavé sur un filtre avec de l'éthanol, de l'eau, puis encore avec de l'éthanol et avec de l'acétone et est enfin mis en suspension dans du benzène et séché dans un évaporateur rotatif à 50°C. La teneur en azote est de 6,7 %. Le produit est carboxyméthylé en soumettant à un traitement à reflux 2 g de la substance dans un mélange contenant 10 ml de benzène, 3 g de triéthylamine et 5 g de bromacétate d'éthyle. Un maximum d'absorption de rayonnement infrarouge se situe à 1740 cm^{-1} ($-\text{C}-$). En chauffant, au bain-marie bouillant, avec de l'hydroxyde de sodium à concentration molaire 2 pendant 1 heure on obtient, après lavage avec de l'eau et de l'éthanol et séchage, un produit présentant une forte absorption infrarouge à 1600 cm^{-1} ($-\text{C}-\text{O}-$).

15

EXEMPLE 5

A 10 mg de particules (40 à 56 microns) préparées conformément à l'exemple 1 et pourvues de groupes chélateurs est ajouté 0,2 ml d'un tampon tris 0,5 M (tris(hydroxyméthyl)amino-méthane/acide acétique, pH 8,8). Puis 100 microCi de $^{169}\text{YbCl}_3$ sont ajoutés et le mélange est secoué pendant 1 heure. Les particules sont ensuite lavées soigneusement avec le tampon tris mentionné. On ajoute 0,1 ml de tampon tris et la suspension est chauffée à 95°C pendant 2 heures. 99 à 100% de l'élément ^{169}Yb ajouté se trouve alors lié aux particules.

25

Enfin, les particules sont mises en suspension dans 2 ml d'une solution saline à 0,9 % pour injections dans des animaux d'essai et 0,2 ml de la suspension est injectée au moyen d'une sonde dans le ventricule droit du coeur de six cobayes. Trois des animaux étaient morts au bout de 5 mn et les trois autres au bout de 16 heures. La radioactivité mesurée dans les poumons des animaux soumis aux essais était de 98 à 100% de celle administrée pour les deux groupes d'expériences, ce qui montre qu'il n'y avait pas eu de fuite notable de radioactivité in vivo pendant une durée de moins de 16 heures.

35

EXEMPLE 6

A 20 g du dérivé époxy, préparé suivant l'exemple 1, sont ajoutés 100 ml de bis-(3-aminopropyl) amine et 200 ml d'eau. Le mélange est agité pendant 120 heures à température ambiante, puis les particules de gel sont lavées soigneusement

avec de l'eau distillée et condensées avec de l'éthanol.
10 g du produit sont mélangés avec 7,5 g de triéthylamine,
5 g d'acide chloracétique et 35 ml d'eau. On permet à la
réaction de se poursuivre pendant 5,5 heures à 60°C. Puis le
5 produit est lavé avec de l'eau (distillée deux fois) sur un
entonnoir de Büchner, puis condensé avec de l'éthanol et enfin
séché sous vide à 40°C pendant la durée d'une nuit. La teneur
en azote est alors de 1,4 %. Quant à la stabilité in vivo dans
les poumons de souris, on constate une perte d'environ 2% d'ac-
10 tivité par heure pour les deux noyaux radioactifs $^{169}\text{Ytterbium}$
et $^{57}\text{cobalt}$. Les conditions d'essai sont analogues à celles
utilisées dans l'exemple 5 mais la suspension de particules
est injectée dans une veine de queue. Il s'est avéré que la
stabilité in vivo de complexes chélates renfermant des métaux
15 est plus réduite dans des souris que dans d'autres mammifères.

EXEMPLE 7

Le mode d'essai de l'exemple 6 est à nouveau utilisé
mais en remplaçant la bis (3-aminopropyl) amine par de la
tris(2-aminoéthyl)amine. La teneur en azote du produit est de
20 1,3%. Quant à la stabilité in vivo dans les poumons de souris
on observe pour le $^{169}\text{Ytterbium}$ une perte d'activité d'environ
1% par heure et pour le $^{57}\text{cobalt}$ une perte d'activité d'environ
2% par heure. L'aptitude du produit à lier différents métaux
est indiquée ci-après de manière quantitative :

25	Mg^{2+}	22 $\mu\text{mol/g}$
	Co^{2+}	130 $\mu\text{mol/g}$
	Cu^{2+}	209 $\mu\text{mol/g}$

EXEMPLE 8

30 Un essai est effectué de la même façon que dans
l'exemple 6 en utilisant cependant de la diéthylènetriamine au
lieu de bis(3-aminopropyl)amine. La teneur en azote du produit
est de 1,8%. Quant à la stabilité in vivo dans les poumons de
souris, on observe pour le $^{169}\text{Ytterbium}$ une perte d'activité
35 d'environ 1% par heure et pour le $^{58}\text{cobalt}$ une perte d'activité
d'environ 1,5% par heure.

EXEMPLE 9

A 10 g d'un produit contenant de la triéthylènetétra-
mine liée, obtenu suivant l'exemple 1, on ajoute 0,65 g d'acide

acrylique et 5 ml d'eau. Le mélange est ensuite chauffé à 72°C pendant 4 heures, après quoi les particules sont lavées soigneusement avec de l'eau distillée (deux fois) et sont séchées sous vide. La teneur en azote du produit est de 1,9%. Quant à
5 la stabilité in vivo dans les poumons de souris, on constate pour le $^{169}\text{Yttrium}$ une perte d'activité de 5% par heure et pour le $^{58}\text{cobalt}$ une perte d'activité de 3% par heure.

REVENDICATIONS

1. Agent, destiné à être administré par voie intra-vasculaire pour permettre des diagnostics et/ou des examens physiologiques, comprenant une suspension, dans un liquide
5 toléré physiologiquement, de minuscules particules marquées avec au moins un noyau métallique radioactif et présentant de préférence une dimension comprise entre 0,1 et 300 microns, les particules étant insolubles mais gonflables dans l'eau et contenant des molécules de polymères renfermant des groupes hydroxyle,
10 de préférence des hydrates de carbone polymères ou polymérisés ou des sucres-alcools ou encore des dérivés, tolérés physiologiquement, de ceux-ci, caractérisé en ce que les particules comportent en outre des groupes chélateurs liés de manière covalente auxquels le noyau radioactif est rattaché sous la forme
15 d'un complexe chélate composé principalement d'au moins quatre noyaux cycliques à 5 ou 6 groupes, renfermant le métal et deux atomes coordinateurs de métal espacés d'une distance de deux ou trois atomes, l'un des atomes coordinateurs de métal étant un atome d'azote et l'autre un atome d'azote ou un atome de
20 soufre ou un atome d'oxygène.

2. Agent suivant la revendication 1, caractérisé en ce que les particules comportent au moins deux groupes chélateurs différents auxquels le noyau radioactif est lié sous la forme de complexes du type chélate composés d'au moins quatre
25 noyaux cycliques du type cité à 5 ou 6 groupes.

3. Agent suivant l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que les molécules polymères présentes dans les particules sont réticulées, au moyen de ponts à liaisons covalentes, de manière à former un réseau tridimensionnel contenant des groupes hydroxyle.
30

